Aus der I. Med. Abteilung
des Städt. Krankenhauses Berlin-Neukölln
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. med. K. Holldak

DIE WIRKUNG VON SERUM NACH GROSSEM BLUTVERLUST AUF DIE ERYTHRO- UND GRANULOPOESE DARGESTELLT AN UNTERSUCHUNGEN VON MENSCHLICHEN KNOCHENMARKSKULTUREN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Hans-Ulrich Stockhorst
aus Berlin

1974

Aus der I. Med. Abteilung
des Städt. Krankenhauses Berlin-Neukölln
Ärztlicher Direktor: Professor Dr.med. K. Holldak

DIE WIRKUNG VON SERUM NACH GROSSEM BLUTVERLUST AUF DIE ERYTHRO- UND GRANULOPOESE, DARGESTELLT AN UNTERSUCHUNGEN VON MENSCHLICHEN KNOCHENMARKSKULTUREN

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Hans-Ulrich Stockhorst
aus Berlin

Referent: Frau Professor Dr.med. Irene B o l l

Korreferent: Professor Dr. H. J. Kirstaedter

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Promoviert am: 4. Oktober 1974

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS Seite

Literaturübersicht 3

Fragestellung 6

Material und Methode 6

Patientengut 11

Ergebnisse 14

Tabellen und Kurven 21

Diskussion 35

Zusammenfassung 37

Literaturverzeichnis 38

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546512_0075

LITERATURÜBERSICHT

Zu Beginn dieses Jahrhunderts schlossen CARNOT und LEFLANDRE (zitiert nach GORDON (24) und WOLTERS (52)) aus Blutuntersuchungen an anämischen Kaninchen auf das Vorhandensein einer die Erythropoese stimulierenden Substanz, die sie Hemopoietine nannten. In der Folgezeit wurde diese Beobachtung auch von anderen Autorengruppen anhand von Differentialzählungen an Ausstrichpräparaten anämischer Versuchstiere bestätigt (8,18,30,36). Kürzlich ist es gelungen, Erythropoietin (ESF = erythropoietic stimulating factor), wie die Bezeichnung für Hemopoietine heute lautet, aus dem Plasma und Urin anämischer Schafe rein darzustellen (46).

Mit der Schwere der Anämie nimmt, wie PLUM (38), MOVASSAGHI et al. (36), ESSERS et al. (20) und WOLTERS (52) feststellten, die ESF-Aktivität im Plasma zu. Als Parameter für den Grad der Anämie diente diesen Autoren der Hb-Wert, während z.B. van DYKE et al. (14) als kritischen Bezugswert einen Hämatokritwert von 12 - 15 % angaben. Wie aus den Untersuchungen von ESSERS (20) weiter hervorgeht, war bei gleichem Hb-Gehalt des Serums die ESF-Aktivität bei aplastischen Anämien größer als bei Blutungsanämien. In ihren Untersuchungen richteten sich MOVASSAGHI (36) und ESSERS (20, 21) nach der Methode von COTES und BANGHAM (13), die auf der Messung der Einbaurate von Radioeisen in roten Blutzellen (RBC) der polyzythämischen Maus basiert, während van DYKE (14) die ^{59}Fe-Inkorporation in hämatopoetischem Gewebe von Ratten maß.

Verschiedene Arbeitsgruppen schlossen aus ihren Untersuchungen (9,17,22,26,31), daß ESF die Umwandlung nicht näher bezeichneter Stammzellen in Erythroblasten fördert. Während ERSLEV (17), HANNA (26) und LORD (31) ihre Ergebnisse mit Hilfe von Zellzählungen an anämischen Versuchstieren er-

mittelten, diente FISCHER (22) die Anreicherung von Radioeisen im blutbildenden Gewebe von Ratten als Parameter. Nach KUBANEK (29) und BRUCE et al. (12) greift ESF an den sogenannten ESF-empfindlichen Stammzellen - auch committed stem cell oder determinierte Stammzelle genannt - an und wandelt diese in Pronormoblasten um. In diesem Zusammenhang berichteten ALPEN et al. (1) in ihren Untersuchungen von einer Vermehrung nur der frühen Erythroblasten, während REMMELE (42) und ROSSE et al. (44) eine Vermehrung aller Erythroblastenformen fanden. REMMELE (42), ALPEN et al. (1) und zum Teil auch BRUCE et al. (12) benutzten in vivo-Methoden, während sich ROSSE et al. (44) der Kulturmethode bedienten.

STOHLMAN et al. (49,50) gingen in ihren Untersuchungen von folgendem Modell aus: Ausgangspunkt der Erythropoese sind die pluripotenten Stammzellen. Daran schließt sich das Stadium der determinierten Stammzelle an, welche sich unter dem Einfluß von ESF in sogenannte differenzierte erythropoietische Vorläuferzellen, die Erythroblasten, umwandeln. Während des zuletzt genannten Entwicklungsschrittes beginnen die Zellen Hämoglobin zu synthetisieren, welcher Vorgang von ESF beschleunigt wird. Eine Steigerung der Hb-Synthese unter exogen zugeführtem ESF, wie z.B. in der Form von Anämieserum, wurde durch verschiedene Untersuchungen festgestellt, wobei als Maß für die gesteigerte ESF-Aktivität - in vivo wie in vitro - die Einbaurate von ^{59}Fe (18,19,22,27), C^{14}-Glyzin (39) und H_3-Glyzin (37) diente.

Andere Autoren (9,15-17,19,24,25,41), unter ihnen vor allem ERSLEV (16-19), führten den Nachweis der Knochenmark-Stimulation durch ESF nicht über die Messung der Hb-Synthese, sondern bedienten sich dabei der Retikulozytenzählung. In den meisten Versuchsansätzen wurde ESF-haltiger Organextrakt bzw. entsprechendes Serum Versuchstieren injiziert. Die Er-

gebnisse der anschließend durchgeführten Retikulozytenzählungen, die gegenüber Kontrollzählungen erhöhte Werte zeigten, sprachen für eine gesteigerte Erythropoese.

MATOTH et al. (33-35) konnten durch in vitro Tierversuche zeigen, daß im Vergleich zu Kontrollkulturen die Zahl der Mitosen nach Zusatz von ESF-haltigem Serum erhöht war. Für eine Steigerung der mitotischen Aktivität sprachen auch die Untersuchungen von ERSLEV (19): die C^{14}-Format-Aufnahme in Knochenmarkzellen von Kaninchen war unter Zusatz von Schaferythropoietin größer als in den Kontrollversuchen, entsprechend einer gesteigerten Synthese von Nukleinsäuren.

Mehrere Autoren (2,10,11,45,47,48) beobachteten, daß es im Tierversuch nach Auslösen einer Anämie durch Entbluten oder mittels Phenylhydrazin induzierter Hämolyse bzw. durch Injektion von ESF-haltigem Serum in polyzythämische Versuchstiere zu einem Auftreten makrozytärer Erythrozyten kam. Während nach STOHLMAN (47,48) und BRECHER et al. (10,11) vermutlich sogenannte "Skipped Divisions", das sind übersprungene Teilungen, dafür verantwortlich sind, erklärten SATIMARU et al. (45) das Auftreten dieser Zellen durch eine frühzeitige Entkernung erythropoetischer Zellen auf der Stufe der polychromatischen Erythroblasten, die bekanntlich größer sind als die nachfolgenden Stufen, die orthochromatischen und reifen Erythroblasten.

FRAGESTELLUNG

Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Frage, welchen Einfluß Serum, das einem Patienten nach akuter Blutung entnommen wurde, auf die Proliferation der Erythro- und Granulopoese von menschlichem Knochenmark in vitro hat. Dazu wurden Knochenmarkskulturen mit und ohne Serumzusatz angelegt und mittels Differentialzählungen die Proliferation beurteilt. Als Parameter wurden Reifungskurven, karyologische Kurven, Mitose- und G/E-Indices zugrunde gelegt.

MATERIAL UND METHODE

Bei der Anlage von menschlichen Knochenmarkskulturen richten wir uns nach der Methode von CARREL, modifiziert nach BOLL (4). Das Nährmedium besteht aus 50 % Nativplasma des Knochenmarkspenders, 10 % Corhormon und 40 % Serum, autologem Serum bei den Kontrollpräparaten und sogenanntem Anämieserum (abgekürzt AS) bei den Zusatzpräparaten.
Von der Mischung bringt man je einen Tropfen auf einen sterilen handelsüblichen Objektträger. Diesem wird nach der Koagulation ein Knochenmarksbröckel aufgesetzt und das Ganze mit einem Tropfen Eigenserum bzw. Anämieserum überschichtet, um das Knochenmark vor Austrocknung zu schützen. Anschliessend wird die Kultur mit einem Hohlschliffobjektträger bedeckt, durch Bestreichen der Ränder mit flüssigem Hartparaffin luftdicht verschlossen und im Brutschrank bei 37°C aufbewahrt.
In Abständen von 24, 48 und 72 Stunden werden die Kulturen ausgestrichen und wie das vorher angefertigte Originalpräparat nach PAPPENHEIM gefärbt.

Somit liegen für jeden Versuch folgende Präparate vor:

a) ein Originalpräparat - Kulturstunde 0
b) Kontrollpräparate - Kulturstunde 24, 48, 72
c) Zusatzpräparate - Kulturstunde 24, 48, 72.

In den einzelnen Präparaten wurden ca. 2ooo Zellen gezählt und ausgewertet, insgesamt bei den 5 Versuchen ca. 7Oooo Zellen; außerdem erfolgte eine Differenzierung der Mitosephasen.
Die Auszählung erfolgte mäanderförmig überwiegend in den zellreichen Randpartien der Ausstrichpräparate.

Die Ausstriche wurden mit Hilfe eines Hellfeldmikroskops der Fa. LEITZ und 1OOer Vergrößerung/Oelimmersion ausgezählt.

Bei der Differenzierung der einzelnen Zelltypen wurde nach folgenden Kriterien verfahren:
Zellen der Erythropoese (5):

Der Proerythroblast (PE), Kerndurchmesser 10 - 17 µ, hat einen großen runden Kern mit dichter, feinkörniger Chromatinstruktur und meist 2 - 3 Nukleolen. Das Zytoplasma ist dunkelblau und schollig strukturiert, gleichmäßig um den Kern angeordnet, gelegentlich mit perinukleärer Aufhellungszone.

Der basophile Erythroblast (bE) ist erheblich kleiner, mit einem Kerndurchmesser von 7 - 10 µ. Der Kern ist grobscholliger mit häufig radiär angeordneten Chromatinstrukturen. Das Zytoplasma ist intensiv basophil gefärbt.

Der polychromatische Erythroblast (pE) ist meist kleiner als die vorher genannten Stufen. Der Kern ist scharf konturiert und reicher an Chromatin, das radspeichenartig angeordnet ist. Der pE hat einen größeren Zytoplasmaanteil, das alle Schattierungen von bläulich und grauviolett bis grauorange haben kann, immer aber homogen gefärbt ist. Sein Kerndurchmesser beträgt 6 - 8 µ.

Bei dem oxyphilen Erythroblasten (oE), Kerndurchmesser 5,5 - 7 µ, der wie alle vorher genannten Blasten teilungsfähig ist, ist der Kern dichter, aber noch strukturiert; das Zytoplasma ist von der Farbe der umgebenden Erythrozyten.

Der reife Erythroblast (rE) hat einen völlig pyknotischen, dunkelvioletten Kern, ohne erkennbare Strukturen. Das Zytoplasma hat zumeist die orange Farbe der Erythrozyten, kann aber bei Kern-Plasma-Reifungsdissoziation auch polychromatisch oder basophil sein. Gelegentlich sieht man Entkernungsfiguren.

Zellen der Granulopoese

Der Einteilung der granulopoetischen Zellen liegen die Untersuchungen von BOLL (4) zugrunde.

1) teilungsfähige Zellen:

Myeloblast (MB)
Promyelozyt (PM)
Myelozyt
a) neutrophil (MC)
b) eosinophil (eMC)
c) basophil (bMC)
Metamyelozyt (MM)
Promonozyt (PMo)

2) nicht teilungsfähige Zellen:

Stabkern. Granulozyt (StG)
Segmentkern. Granulozyt
a) neutrophil (SG)
b) eosinophil (eSG)
c) basophil (bSG)
Monozyt (Mo)

Die retikulären, lymphatischen und Plasmazellen wurden für die Auswertung nicht berücksichtigt.

Die 6 Mitosephasen wurden wie folgt abgegrenzt (3,4):

Prophase (P):
Der Zellkern verliert seinen Membranabschluß; es liegt eine dichte Knäuelform der Chromosomen vor (festes Spirem).

Frühe Metaphase (fM):
Das Spirem ist aufgelockert und die Chromosomen sind über die gesamte Zelle verteilt.

Späte Metaphase (sM):
Stadium der Äquatorialplatte oder in der Aufsicht Monaster - sternförmige Anordnung der Chromosomen.

Anaphase (A):
Ausbildung eines Diasters durch Auseinanderwandern der Chromosomenhälften.

Telophase (T):
Beginnende Tochterzellbildung durch Einschnürung des Zellleibes. Die Chromosomen liegen in beiden Tochterhälften als lockeres Dispirem vor.

Rekonstruktionsphase (Rek):
Die Chromosomen liegen als festes Dispirem vor; Kernmembran und Nukleolen sind noch nicht ausgebildet. Oft ist ein Plasmafaden zwischen den immer gleichen Tochterzellen vorhanden.

Für die aus den Zählungen ermittelten Werte wurden für die Erythropoese und Granulopoese getrennt Reifungskurven angefertigt, wobei die prozentuale Verteilung der einzelnen Stufen auf der Abszisse, die Zeit - in Stunden (h) - auf der Ordinate angegeben wurde. Reifungskurven wurden für jeden Versuch einzeln (Abb. 1 - 5, Seiten 27 - 31) und aus den gemittelten Zellzahlen (Mittelwertskurve, Abb.6,Seite 32) angefertigt. In den Abbildungen bezieht sich die durchgezogene Linie auf die Kontrollkulturen, während die unterbrochene Linie für die Zusatzkulturen mit Anämieserum (AS) steht.

Die Mitoseindices (rMi = roter Mitoseindex, wMi = weißer Mitoseindex) geben den Quotienten aus der Anzahl der Mitosen und der teilungsfähigen Zellen an; sie werden in ‰ angegeben (Tabellen 2-5, Seiten 22/23). Die Notierung der Mitose-

indices erfolgte auf zwei Weisen:

a) rMi_I, wMi_I:

Quotient: $\frac{\text{Mitosen aller Zellgruppen eines Versuches}}{\text{teilungsf.Zellen aller Zellgr.eines Vers.}}$

b) rMi_{II}, wMi_{II}:

Quotient: $\frac{\text{Mitosen einer Zellgruppe aller Versuche}}{\text{teilungsf.Zellen einer Zellgr.aller Vers.}}$

Durch den G/E-Index wird das Verhältnis Granuloblasten und -zyten zu den Erythroblasten ausgedrückt (Tab. 1, Seite 21). Der G/E-Index erlaubt Schlüsse über das relative Verhalten von Granulo- und Erythropoese.

Die Karyologische Kurve, die getrennt für Erythro- und Granulopoese geschrieben wurde (Abb. 7, Seite 33), zeigt graphisch die Prozentverteilung der Mitosephasen.

Signifikanzbestimmung:
Um zu überprüfen, ob die Veränderungen, die sich im Laufe der Kulturzeit zwischen Kontroll- und Zusatzwerten ergaben, statistisch signifikant waren, wurde das χ^2-Verfahren angewandt, dem folgende Formel zugrunde liegt:

$$\chi^2 = \sum \frac{(B-E)^2}{E}$$

B = Beobachtungswert, E = Erwartungswert.
Aus speziellen mathematischen Tafeln (23,32) entnimmt man für jeden χ^2-Wert den entsprechenden p-Wert, der je nach Grösse Aufschluß über die Signifikanz gibt (Tab. 6, Seite 24/25). Der Einfachheit halber wurden wegen des Umfanges der Signifikanzberechnung nur die p-Werte aufgeführt. Für die Beurteilung der p-Werte gilt folgendes:

$p > 0{,}05$	keine Signifikanz
$0{,}05 > p > 0{,}01$	Signifikanz zweifelhaft
$0{,}01 > p > 0{,}0027$	einigermaßen gesicherte Signifikanz
$p < 0{,}0027$	Signifikanz statistisch gesichert

PATIENTENGUT

1) Patient: O.Sch., 78 Jahre alt

Diagnose: Paroxysmale Herzrhythmusstörungen

Sternalpunktion v. 6.10.1970: etwa normaler KM Befund

Blutbild v. 23.12.1969: Hämatokrit (HK) 43 %,
Hämoglobin 12,6 g%,
Erythrozyten 4,41 Mill/µ 1,
HbE 28,4 pg,
Leukozyten 5600/µl,
Basophile 3 %,
Eosinophile 1 %,
Stabkernige 1 %,
Segmentkernige 62 %,
Lymphozyten 33 %,
Thrombozyten 201 000/µl

2) Patientin: H.Tei., 75 Jahre alt

Diagnose: Leber Ci., Zustand nach Ösophagusvarizenblutung, Hypertonus, latenter Diabetes mellitus

Sternalpunktion v. 12.11.1969: Angeregte Erythropoese wie z.B. bei chronischen Blutungen; Megaloblastoide, Plasmazell- und Eosinophilenvermehrung wie bei Hepatopathie

Verordnungen v. d.Sternalpunkt.: LANICOR^{R}, 2 x 1 Tbl.,
FERRLEZIT^{R}, 3 x 30 Tropfen

Blutbild v. 4.11.1969: Hb 12,6 %,
E 3,53 Mill/µl,
HbE 35,4 pg,
L 3700/µl,
Bas 2 %,
Eos 2 %,
St 10 %,
Seg 66 %,
Lym 16 %,
Mo 4 %,

3) Patient:	E.Fi., 78 Jahre alt
Diagnose:	Chron. lymphat. Leukämie, essent. Hypertonie, Myokardschaden, gastrointestinale Blutung
Sternalpunktion v. 10.11.1969:	Angeregte linksverschobene Erythropoese wie bei chron. Blutverlust, reichlich Lymphozyten
Blutbild v. 8.11.1969:	HK 24 %, Hb 8,6g%, E 2,63 Mill/µl, HbE 32,4 pg, L 35ooo/µl, St 1 %, Seg 34 %, Lym 64 %, Mo 1 %, Gumprecht'sche Kernschatten 156 %, Throm 45o ooo/µl, Retikulozyten 30 %o, Anisozytose +, Poikilozytose +, Polychromasie +, Toxische Granulation +

4) Patientin:	E.Sch., 73 Jahre alt
Diagnose:	Diabetes mellitus, hyperchrome Anämie
Sternalpunktion v. 27.1.1970:	Im Vordergrund steht die entzündlich angeregte weiße Reihe. Einzelne Megaloblasten und Riesenstäbe lassen das Vorliegen eines Vit.-B_{12}- oder Folsäuremangels vermuten
Blutbild v. 9.1.1970:	Hb 12,8 g%, E 3,7 Mill/µl, HbE 34,7 pg, L 42oo/µl, Eos 2 %, St 2 %, Seg 68 %, Lym 23 %, Mo 2 %, AMZ 3 (atypisch mononukleäre Zellen) Schilling-Test 10,6 %. Im Eisenresorptionstest stieg der Eisenspiegel von 90,9 γ% auf 136 γ% an
Blutbild v. 26.1.1970:	Hb 9,5 g%, Retis 10 %o

5) Patientin:	E.H., 73 Jahre alt
Diagnose:	Tablettenintoxikation bei exogen depressiver Reaktion, hyperchrome Anämie
Sternalpunktion v. 6.11.1969:	Gesteigerte Erythropoese mit Vorkommen von Megaloblastoiden bei Eisenmangel (fehlende Eisenspeicherung in der Berliner Blau Färbung). Ein anbehandelter Morbus Biermer wurde durch die Magensaftanalyse, die hypazide Werte ergab, ausgeschlossen
Blutbild v. 4.11.1969:	Hb 11,3 g%, E 3,17 Mill/µl, HbE 35,3 pg, L 4000/µl, Eos 5 %, St 5 %, Segm 64 %, Lym 19 %, Mo 6 %, AMZ 1 Blutzucker 84 mg%, BKS 15/3o

Spender des Anämieserums:

Patient:	P.M., 76 Jahre alt
Diagnose:	Chronische intestinale Blutungen unklarer Genese
Blutbild v. 7.10.1969:	Hb 6,2 g%, E 2,11 Mill/µl, HbE 29,4 pg, L 10loo/µl
Blutbild v. 25.10.1969:	(nach anhaltenden Teerstühlen) Hb 8,3 g%, HK 27 %

Entnahme des Blutes zur Serumgewinnung zwischen dem 24. und 28.10.1969.

ERGEBNISSE

Versuch 1 (Abb.1,S.27):

Die Differentialverteilung der erythropoetischen Zellen im Originalaustrich ist linksverschoben: Die PE (Proerythroblasten) und bE (basophilen Erythroblasten) sind vermehrt und oE (oxyphile Erythroblasten) und rE (reife Erythroblasten) fehlen. Im Verlauf der Kultivierung (Tab.1,S.27) nehmen die oE und rE auf Kosten der PE, bE und pE (polychromatische Erythroblasten) wie bei BOLL et al. (5) stark zu. Nach Zusatz von Anämieserum (AS) finden sich viel weniger oE, dafür vorwiegend pE und rE, wenn auch die rE um die 72. Stunde eine signifikante Verminderung zeigen (Tab.6,S.24). Ebenfalls signifikant sind unter AS-Zusatz die relative Zunahme der pE über die gesamte Kulturzeit, der rE um die 48. Stunde, der bE um die 48. Stunde und zusammen mit den PE um die 72. Stunde.

Der G/E Index (Tab.1,S.21) liegt mit 2,5 nahe bei dem von ROHR (43) angegebenen Wert, aber unter denen von BOLL et al. (5) und WINTROBE (51); er muß wie die Linksverschiebung im Originalpräparat im Sinne einer Anregung der Erythropoese gedeutet werden. Um die 24. Kulturstunde erniedrigt er sich auf 1,4 - um nach 48 Stunden auf 2 wieder anzusteigen und letztlich nach 72 Stunden auf 1,7 zurückzugehen. Nach Zusatz von AS sind sämtliche G/E werte gegenüber den entsprechenden Kontrollwerten signifikant erhöht (Tab.6,S.25), was für eine schnellere Ausreifung der Erythropoese spricht.

Verglichen mit den von BOLL et al. (5) ermittelten Werten ist der rMi_I im Originalausstrich mit 8,2 niedrig; er erhöht sich um die 24. Stunde etwas, um dann bis zum 3. Kulturtag kontinuierlich abzufallen (Tab.2,S.22). Unter Zusatz von AS zeigen sich die Mitoseindices, verglichen mit denen der Kontrollen, unwesentlich erhöht; die werte nehmen ebenfalls

mit der Kulturzeit ab. Die Veränderungen im rMi_I zwischen Kontroll- und Zusatzwerten waren bei diesem Versuch, wie auch bei den folgenden vier Versuchen, nicht signifikant (Tab.6,S.25).

Die für die Granulopoese typische Vermehrung teilungsfähiger Zellen um die 24. Kulturstunde und deren kontinuierlicher Rückgang im späteren Verlauf ist auch nach AS zu beobachten, z.T. kommt es sogar zu einer Vermehrung der MC (Myelozyten) um die 72. Stunde (Abb.1,S.27). Die Veränderungen des wMi_I zeigten unter AS keine einheitliche Tendenz (Tab.3,S.22).

Versuch 2 (Abb.2, S.28):

Die Zellverteilung der Erythropoese zeigt im Originalausstrich ein für eine Blutungsanämie charakteristisches Verhalten (Abb.2,S.28). Im weiteren Verlauf zeigen alle fünf Zellklassen die übliche Linksverschiebung mit einer besonders starken Vermehrung der rE. Dieses Verhalten ist unter AS noch verstärkt und wie Tab.6 zeigt (S.24), ist die Verminderung der PE, bE und pE und,bis auf eine Ausnahme, die Vermehrung der oE und rE statistisch signifikant.

Der G/E Index (Tab.1,S.21) liegt im Original gemäß der Diagnose Blutungsanämie niedrig; er zeigt im weiteren Verlauf der Kultur nur um die 48. und 72. Stunde eine geringe Erhöhung gegenüber dem Ausgangswert. Unter AS sind die Werte im Vergleich zu den entsprechenden Kontrollwerten signifikant erniedrigt (Tab.6,S.25).

Verglichen mit den Werten von BOLL et al. (5) liegt der rMi_I (Tab.2,S.22) etwas niedrig; er steigt um die 24. Stunde an, um dann bis zum 3. Kulturtag kontinuierlich abzufallen. Gegenüber diesen Werten zeigt sich nach Zugabe von AS

eine geringe Erhöhung der rMi-Werte nach 48 Stunden und geringe Erniedrigung zu den übrigen Kulturzeiten.

In der Granulopoese bewirkt AS eine Stimulation der teilungsfähigen Zellen bis 48 Stunden bei späterer verstärkter Ausreifung. Der wMi_I ist um die 48. und 72. Stunde höher, während er im 24-Stunden-Versuch kleiner ist als bei den Kontrollversuchen (Tab.3,S.22).

Versuch 3 (Abb.3,S.29):

Die Verteilung der erythropoetischen Zellen zeigt die für eine Blutungsanämie typischen Veränderungen (5). Die unter Kulturbedingungen übliche Ausreifung erfolgt bei diesem Versuch erst am 2. Kulturtag - dafür aber sehr stark - und nimmt im weiteren Verlauf der Kultur nur noch geringfügig zu. Unter AS kommt es wie bei den vorher beschriebenen Versuchen zu einer Ausreifungsverstärkung schon nach 24 Stunden, die bei 48 Stunden ihr Maximum hat. Während die jüngeren Zellen bis zur 48. Stunde signifikant abnehmen, sind die reiferen Stufen bis zu diesem Zeitpunkt signifikant vermehrt, mit Ausnahme der oE (Tab.6,S.24). Außerdem nehmen die pE um die 72. Stunde wieder etwas zu.

Der G/E Index, der nur geringfügig unter dem von ROHR angegebenen Normalwert liegt (43), läßt im Kulturverlauf keine einheitliche Tendenz erkennen (Tab.1,S.21). Unter AS sinken die Werte ab, von der 48. Stunde an signifikant.

Der rMi_I, der nahe an dem BOLL'schen Normalwert (5) liegt, nimmt im weiteren Kulturverlauf stetig ab. Im Vergleich dazu kommt es unter AS zu einem Anstieg der Mitoseindices (Tab.2,S.22).

Die nach dem ersten Kulturtag übliche Zunahme teilungsfähiger granulopoetischer Zellen läßt sich auch in diesem Ver-

auch zeigen, wobei deren Anteil in den Zusatzkulturen größer ist als in denen ohne AS; im weiteren Verlauf nehmen in beiden Versuchsansätzen die teilungsfähigen Zellen zu Gunsten der reifen Zellstufen ab (Abb.3,S.29). Unter AS ist der wmi_I nur um die 24. Stunde gegenüber dem Kontrollwert erhöht, ansonsten liegen die Zusatzwerte unter den entsprechenden Kontrollwerten (Tab.3,S.22).

Versuch 4 (Abb.4,S.30):

Bei der Erythropoese zeigt die Differentialverteilung des Originalausstriches im wesentlichen keine Änderungen gegenüber den Normalwerten in der Literatur (5). Mit zunehmender Kulturzeit nehmen die jüngeren Zellen zu Gunsten der reiferen Zellen ab. AS bewirkt eine verstärkte Ausreifung aller Zellklassen, was besonders auffällig bei den rE ist. Während die rE zu allen Kulturstunden signifikant vermehrt sind, werden alle Zellklassen, mit Ausnahme der bE, nach 72 Stunden - zum Teil signifikant - erniedrigt (Tab.6, S.24).

Der G/E Index, dessen Wert im Original sich unwesentlich von den Normalwerten in der Literatur unterscheidet, nimmt nach anfänglicher Verminderung am 1. und 2. Kulturtag wieder leicht zu. Unter AS-Wirkung liegt er am zweiten Kulturtag unter dem entsprechenden Kontrollwert.

Der rmi_I des Originals erfährt mit zunehmender Kulturzeit eine stetige Erniedrigung, wobei die Werte nach AS-Zusatz stets gegenüber den entsprechenden Kontrollen erhöht sind (Tab.2,S.22).

Bei der Granulopoese ist eine Zunahme teilungsfähiger Zellen um die 24. Kulturstunde und eine allmähliche Abnahme im weiteren Verlauf auch unter AS zu beobachten, aber geringer ausgeprägt als in den entsprechenden Kontrollversuchen (Abbildung 4, S.30). AS bewirkt außerdem einen

Anstieg des wMi_I der Zusatzkulturen im 24- und 48-Stunden-Versuch im Vergleich zu den Kontrollen (Tab.3,S.22).

Versuch 5 (Abb.5,S.31):

Im Originalausstrich entspricht die Differentialverteilung der Erythropoese der Normalverteilung (5). Im weiteren Kulturverlauf kommt es weitgehend zu der üblichen Zunahme von rE. AS bewirkt im Vergleich zu den Kontrollkulturen eine signifikant verstärkte Linksverschiebung der Differentialverteilung. Signifikant vermindern sich vor allem die jungen Erythroblasten (Tab.6,S.24).

Entsprechend der Anämie liegt der G/E Index (Tab.1,S.21) unter den in der Literatur angegebenen Normalwerten (43). In den Kontrollen sinkt er wie üblich um die 24. Stunde ab, um nach 48 Stunden ein ungewöhnliches Maximum zu erreichen; am 3. Kulturtag liegt er wieder unter dem 48-Stunden-Wert, aber über dem 24-Stunden-Wert. Demgegenüber sind die G/E Indices der Zusatzkulturen mit Ausnahme des ersten Kulturtages signifikant vermindert; wie im Falle des Versuches 2 ist hierbei eine Entkernungsstörung der Erythroblasten wahrscheinlich.

Im Vergleich zu den Normwerten von BOLL et al. (5) ist der rMi_I nur geringfügig vermindert und zeigt mit zunehmender Kulturzeit die übliche Tendenz zur Verminderung, was weitgehend für Kontroll- und Zusatzwerte charakteristisch ist (Tab.2,S.22).

Bis zum 2. Kulturtag zeigen die granulopoetischen Zellen in den Kontrollkulturen das übliche Verhalten, im 72-Stunden-Ausstrich dann aber eine ungewöhnliche Vermehrung der teilungsfähigen Zellen. Unter AS sind die teilungsfähigen Zellen am 1. Kulturtag vermehrt und ihre Zahl sinkt im weiteren Verlauf der Kultur stetig ab (Abb.5,S.31). Ledig-

lich nach dem 1. Kulturtag zeichnet sich eine Veränderung im Mitoseverhalten ab - Erhöhung des wMi_I unter AS - während sich im weiteren Kulturverlauf Kontroll- und Zusatzwert nur geringfügig unterscheiden (Tab.3,S.22).

In den Mittelwertskurven (Abb.6,S.32) zeigt sich bei der Erythropoese die Tendenz, die auch bei der Beschreibung der einzelnen Reifungskurven schon zum Ausdruck kam: mit zunehmender Kulturzeit zeigt sich eine Linksverschiebung der Differentialverteilung, entsprechend einer Verstärkung der Ausreifung.

Die Zellen der Granulopoese zeigen nach Zusatz von AS bei normalem Verhalten in den Kontrollkulturen rechtsverschobene Kurven (Ausnahme: SG bei 24 Stunden und eSG bei 48 Stunden), die bei den MC am ausgeprägtesten sind.

Beim Vergleich der mittleren G/E Werte (Tab.1,S.21) von Kontroll- und Zusatzkulturen zeigt sich ein Verhalten, das nicht in jedem Fall mit dem der Einzelkulturen übereinstimmt: der Erhöhung des mittleren G/E Indexes am 1. Kulturtag unter AS folgt im weiteren Verlauf eine Verminderung der Zusatzwerte im Vergleich zu den Kontrollen.

Die mittleren Mitoseindices der gesamten Erythro- bzw. Granulopoese (rMi_I, wMi_I) sind unter AS jeweils erhöht, allerdings ohne statistische Signifikanz. Die Tendenz dieser Werte ist im weiteren Verlauf der Kultur bei beiden Versuchsansätzen eine abnehmende (Tabellen 2,3,S.22).

Die Mitoseindices der einzelnen Reifungsstufen der Erythropoese zeigen unter AS eine Erhöhung sämtlicher Werte im 24-Stunden-Versuch, besonders deutlich bei den bE, wie auch bei diesen im weiteren Kulturverlauf (Tab.4,S.23).

Bei der Granulopoese kommen Mitosen nur bei den PM und MC vor: AS bewirkte bei den PM einen Anstieg des Mitoseindexes

im Vergleich zu den Kontrollen, während der Mitoseindex der MC, abgesehen von einer geringfügigen Erhöhung im 24-Stunden-Versuch, in den Zusatzkulturen nicht vermehrt war.

Die karyologische Kurve (Abb.7,S.33, Tab.7,S.26) ändert sich unter AS nur geringfügig, bei sonst unauffälliger Verteilung in den Kontrollen. Dies gilt vor allem für die Erythropoese, während sich bei der Granulopoese einige Schwankungen bei den fM und T ergeben. Spektakuläre Vermehrungen der Mitosezahlen waren bei beiden Reihen nicht zu verzeichnen.

Zusammenfassend können wir sagen:
Bei der Erythropoese kommt es unter AS zu einer Reifungsförderung, die sich sogar im ersten Versuch auf den G/E Index im Sinne einer Erythroblastenverminderung auswirkt. Die Zunahme reifer Zellen erstreckt sich dabei - mit Ausnahme von Versuch 1 am dritten Kulturtag - über den gesamten Kulturverlauf, wie aus den Kurven der Einzelkulturen und Mittelwerte ersichtlich ist. Eine Stimulation der Regeneration teilungsfähiger Zellen ließ sich ebenfalls, wenn auch nicht signifikant, zeigen (Abb.1-6, S.27-32). Bei unveränderter karyologischer Kurve kommt es besonders bei den basophilen Vorstufen zu einer Regenerationsförderung.

In der Granulopoese zeigt sich ebenfalls eine wenn auch nicht signifikant verstärkte Mitosehäufigkeit, besonders bei den Promyelozyten, nach dem erhöhten Mitoseindex (Tab.5,S.23) und der unveränderten karyologischen Kurve (Abb.7,S.33). Dem entspricht die Zunahme teilungsfähiger Granuloblasten nach 24 Stunden, die bei später guter Ausreifung als Stimulation durch das Serum bei Blutungsanämien aufzufassen ist.

Tabelle 1:

G/E Indices:

	0 h	24 h		48 h		72 h	
	Orig.	ohne AS	mit AS	ohne AS	mit AS	ohne AS	mit AS
Versuch 1	2,5	1,4	2,4	2,o	3,5	1,7	2,2
Versuch 2	1,2	1,2	0,9	1,9	1,2	1,7	1,3
Versuch 3	2,3	1,3	1,1	2,3	1,4	1,4	0,6
Versuch 4	2,3	1,3	1,8	1,9	1,5	1,9	2,7
Versuch 5	2,o	1,2	2,3	5,1	1,9	3,7	0,8
arithm. Mittel	2,1	1,3	1,7	2,6	1,9	2,1	1,5

Tabelle 2: Mitoseindices der gesamten Erythropoese

rMi_I-Werte:

	0 h	24 h		48 h		72 h	
	Orig.	ohne AS	mit AS	ohne AS	mit AS	ohne AS	mit AS
Versuch 1	8,2	9,8	10,o	7,7	7,7	3,3	5,6
Versuch 2	16,o	18,o	16,o	6,7	10,o	4,8	3,6
Versuch 3	10,o	4,o	12,o	3,3	6,6	0,o	5,5
Versuch 4	14,o	10,o	18,o	10,o	10,4	5,o	10,o
Versuch 5	12,o	10,o	12,o	6,7	5,7	0,o	0,o
arithm. Mittel	12,o	10,4	13,6	6,9	8,1	2,6	4,9

Tabelle 3: Mitoseindices der gesamten Granulopoese

wMi_I-Werte:

Versuch 1	11,2	4,4	7,4	5,2	4,7	5,4	4,2
Versuch 2	12,o	11,9	6,3	0,o	9,3	0,o	8,o
Versuch 3	3,2	13,7	14,7	9,6	3,8	4,8	3,5
Versuch 4	7,1	10,1	14,4	3,5	4,8	0,o	0,o
Versuch 5	3,3	11,o	21,6	7,9	7,5	5,7	4,6
arithm. Mittel	7,4	10,2	12,8	5,3	6,o	3,2	4,o

Tabelle 4:

Mitoseindices der einzelnen erythropoetischen Reifungsstufen aller Versuche zus.

rMi_{II}-Werte:

	0 h	24 h		48 h		72 h	
	Orig.	ohne AS	mit AS	ohne AS	mit AS	ohne AS	mit AS
Zellgr.:							
PE	28,5	10,3	17,9	0,o	0,o	0,o	0,o
bE	11,9	16,9	58,o	20,8	79,o	55,5	91,o
pE	8,3	12,o	15,5	19,8	12,7	3,o	9,o
oE	0,o	1,3	3,2	0,o	7,9	2,2	0,o

Tabelle 5:

Mitoseindices der einzelnen granulopoetischen Reifungsstufen aller Versuche zus.

wMi_{II}-Werte:

Zellgr.:							
PM	31,4	14,o	19,o	4,8	12,5	4,3	14,8
MC	7,7	12,8	14,o	9,o	1,6	5,5	1,1

Tabelle 6:

p-Werte der einzelnen erythropoetischen Zellgruppen

Zell-gruppe:	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4	Versuch 5
PE_{24}	$>0,05$	$>0,05$	$<0,0027$	$<0,0027$	$>0,05$
bE_{24}	$0,05>p>0,01$	$<0,0027$	$<0,0027$	$<0,0027$	$<0,0027$
pE_{24}	$<0,0027$	$<0,0027$	$<0,0027$	$0,05>p>0,01$	$>0,05$
oE_{24}	$<0,0027$	$<0,0027$	$<0,0027$	$>0,05$	$0,05>p>0,01$
rE_{24}	$>0,05$	$<0,0027$	$<0,0027$	$<0,0027$	$0,01>p>0,0027$
PE_{48}	$>0,05$	$>0,05$	$0,01>p>0,0027$	$<0,0027$	$>0,05$
bE_{48}	$<0,0027$	$>0,05$	$0,01>p>0,0027$	$>0,05$	$<0,0027$
pE_{48}	$<0,0027$	$<0,0027$	$<0,0027$	$<0,0027$	$0,01>p>0,0027$
oE_{48}	$<0,0027$	$0,01>p>0,0027$	$<0,0027$	$<0,0027$	$>0,05$
rE_{48}	$0,05>p>0,01$	$<0,0027$	$<0,0027$	$<0,0027$	$0,05>p>0,01$
PE_{72}	$<0,0027$	$>0,05$	$>0,05$	$>0,05$	$0,05>p>0,01$
bE_{72}	$0,05>p>0,01$	$>0,05$	keine Zellen	$>0,05$	$<0,0027$
pE_{72}	$<0,0027$	$<0,0027$	$<0,0027$	$>0,05$	$<0,0027$
oE_{72}	$>0,05$	$<0,0027$	$>0,05$	$<0,0027$	$<0,0027$
rE_{72}	$<0,0027$	$<0,0027$	$>0,05$	$<0,0027$	$<0,0027$

Tabelle 6: - Fortsetzung -

p-Werte - rMi_I, wMi_I, G/E Index

	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4	Versuch 5
rMi_{24}	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
wMi_{24}	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
G/E_{24}	<0,0027	<0,0027	>0,05	<0,0027	<0,0027
rMi_{48}	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
wMi_{48}	>0,05	0,05>p>0,01	>0,05	>0,05	>0,05
G/E_{48}	<0,0027	<0,0027	<0,0027	<0,0027	<0,0027
rMi_{72}	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	keine Mitosen
wMi_{72}	>0,05	0,05>p>0,01	>0,05	keine Mitosen	>0,05
G/E_{72}	<0,0027	0,01>p>0,0027	<0,0027	<0,0027	<0,0027

- Die Indices beziehen sich auf die Kulturzeit der Versuche -

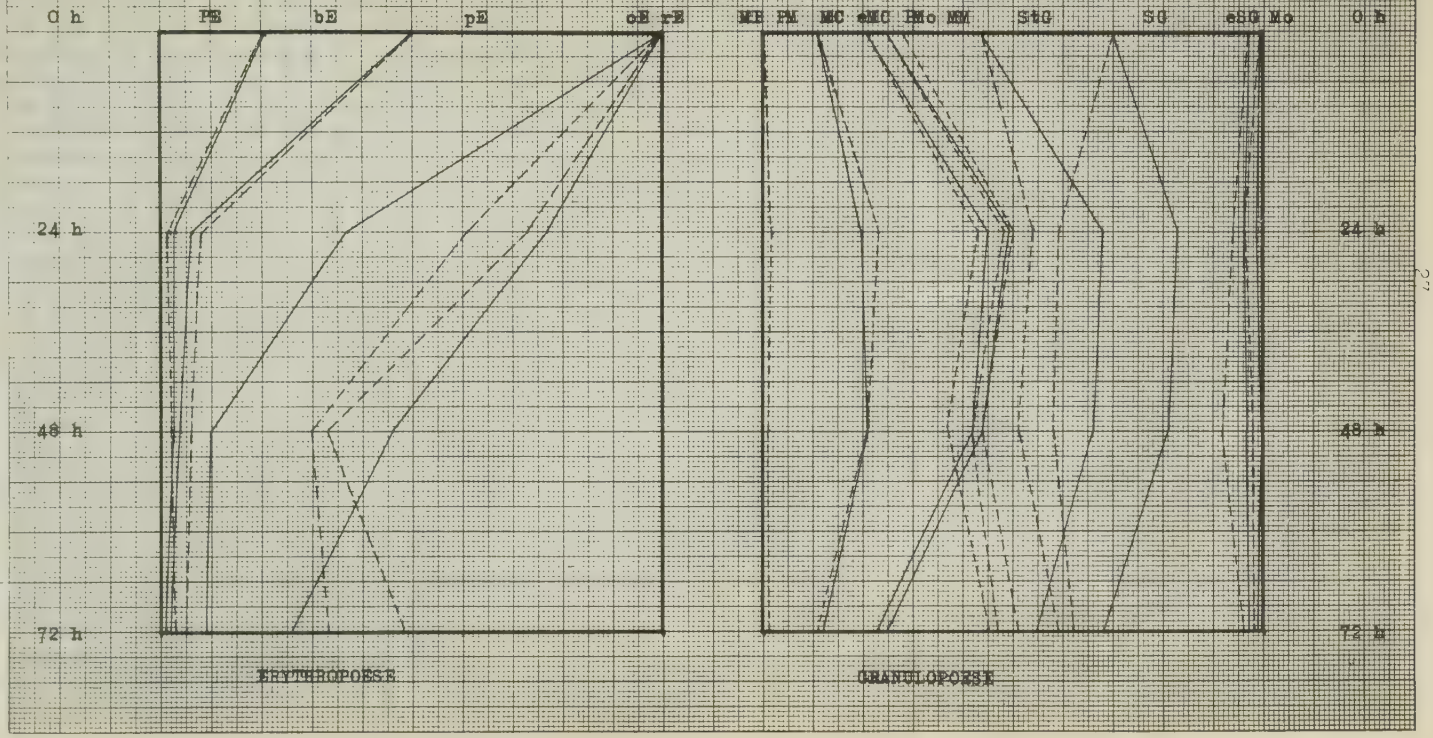
Tabelle 7:
Karyologische Kurve (Werte):

Mitose-phase	ERYTHROPOESE absol.Zellzahl ohne AS	mit AS	Zellzahl in % ohne AS	mit AS	GRANULOPOESE absol.Zellzahl ohne AS	mit AS	Zellzahl in % ohne AS	mit AS
P	5	7	13	14	9	10	17	13
fM	13	19	33	38	11	31	21	38
sM	15	16	38	32	21	32	40	39
A	3	5	8	10	6	7	12	9
T	2	2	5	4	5	1	10	1
Rek.	1	1	3	2	0	0	0	0
Summe	39	50	100	100	52	81	100	100

Abszisse: Zellgruppen, additiv in % aufgetragen
Ordinate: Zeit in Stunden (h)
—— ohne AS (Kontrolle)
---- mit AS (Zusatz)

Versuch 1

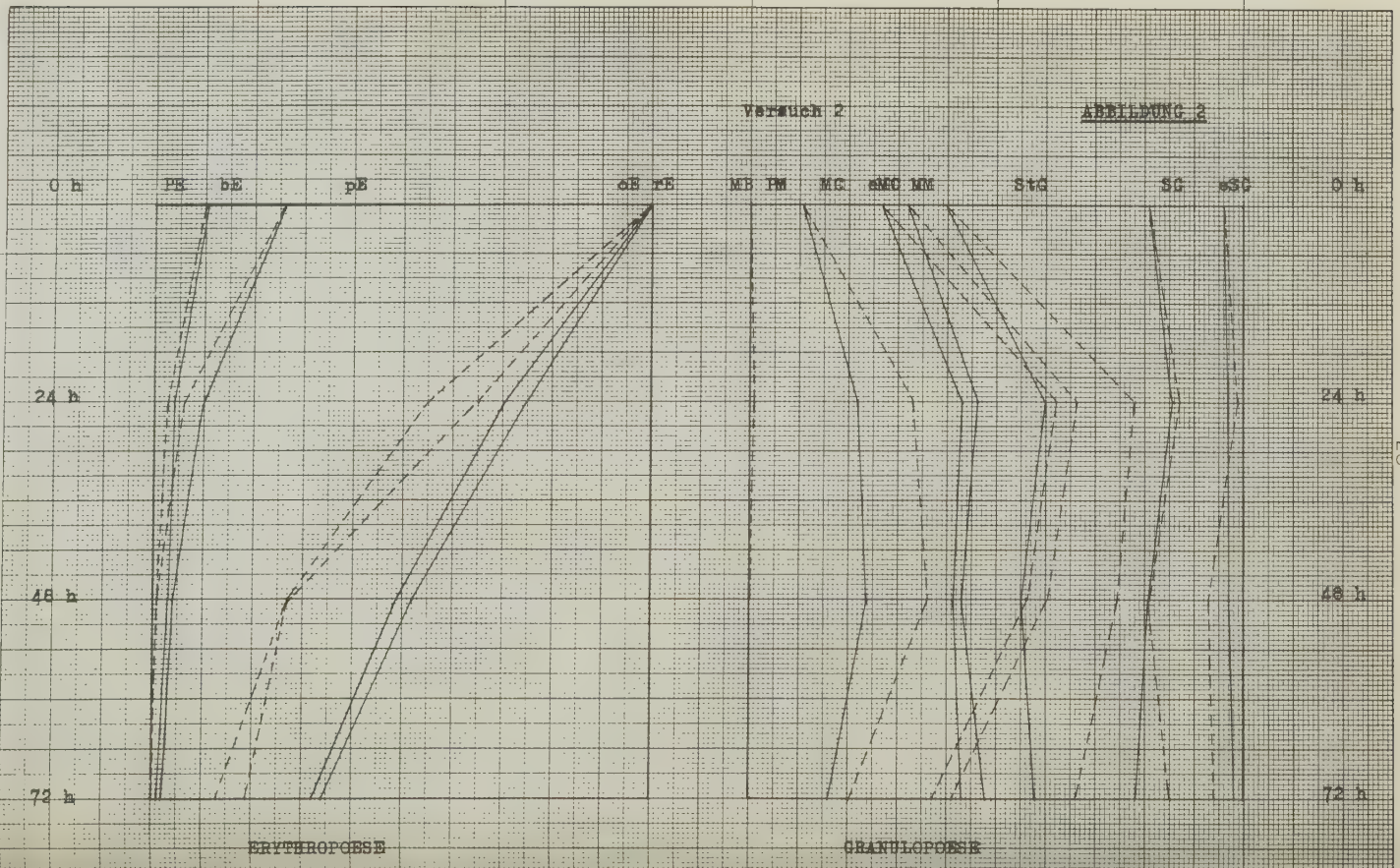
ABBILDUNG 1



VANG
18318

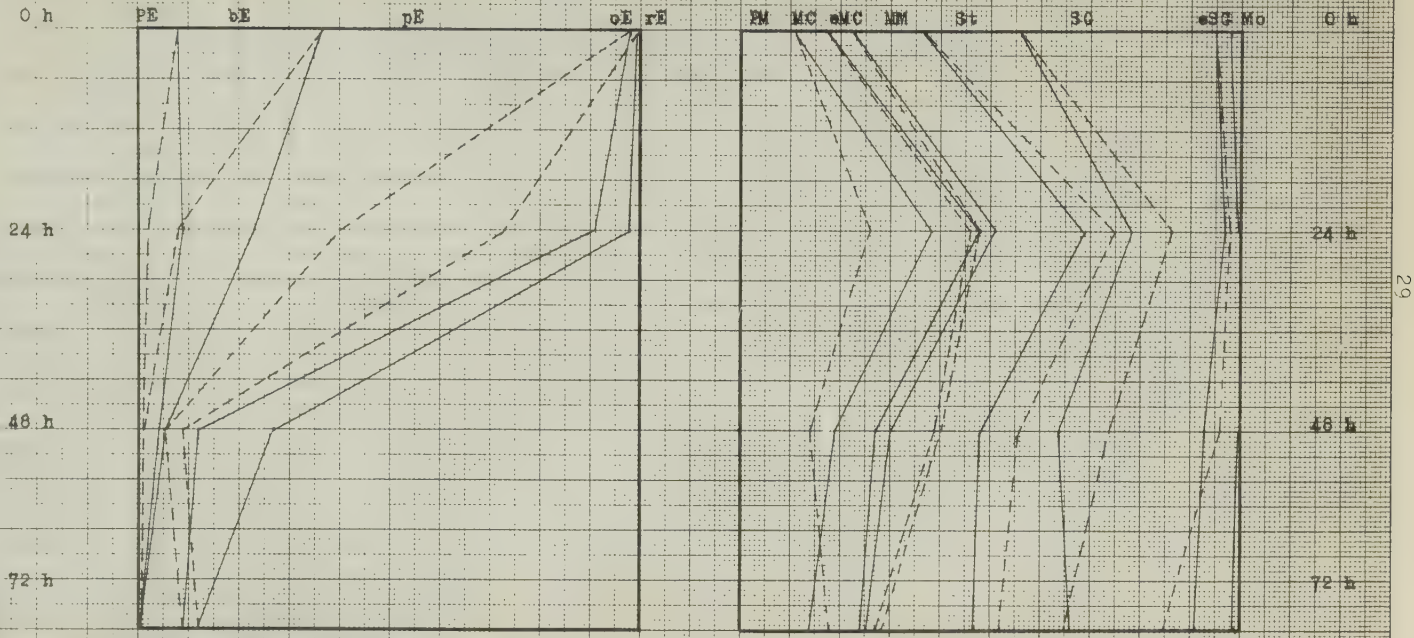
Versuch 2

ABBILDUNG 2



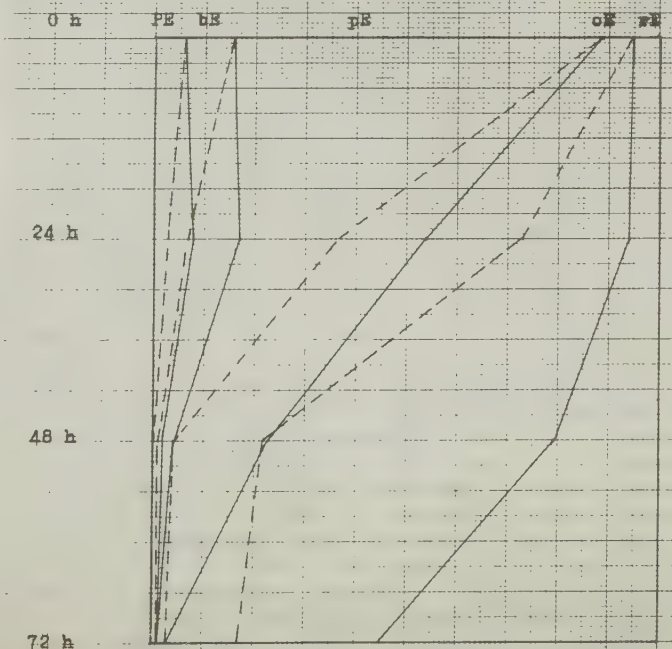
Versuch 3

ABBILDUNG 3

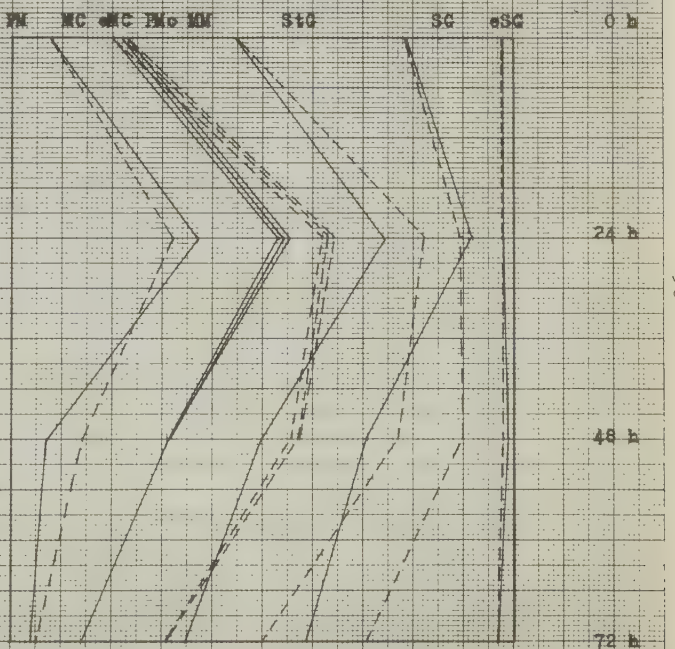


Versuch 4

ABBILDUNG 4



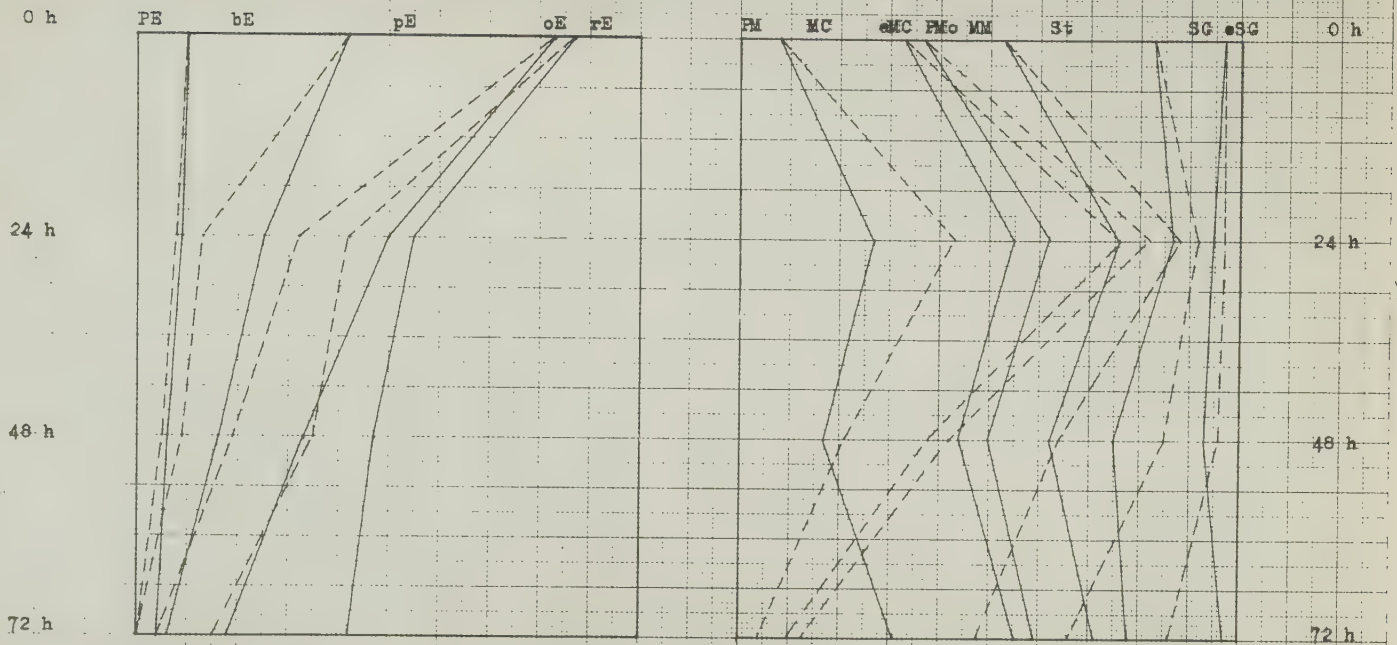
ERYTHROPOESE



GRANULOPOESE

Versuch 5

ABBILDUNG 5



Mittelwertskurve der Versuche 1 - 5

ABBILDUNG 6

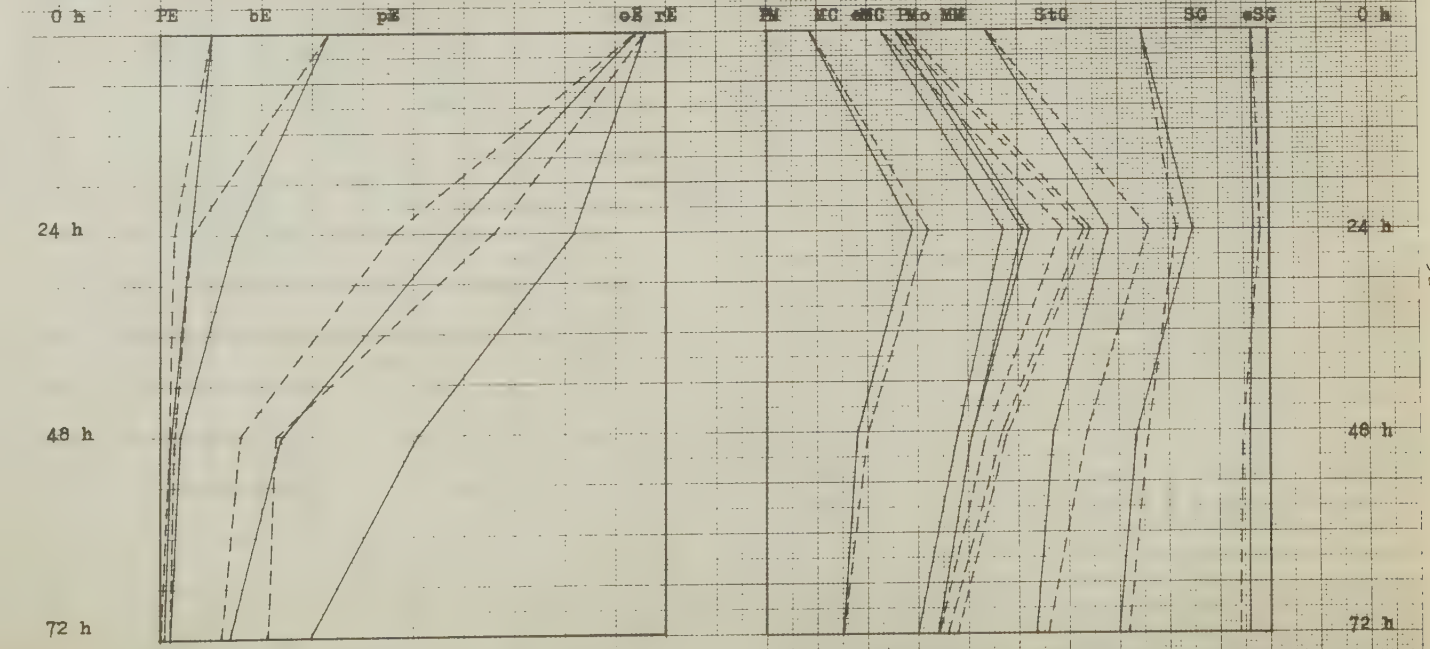
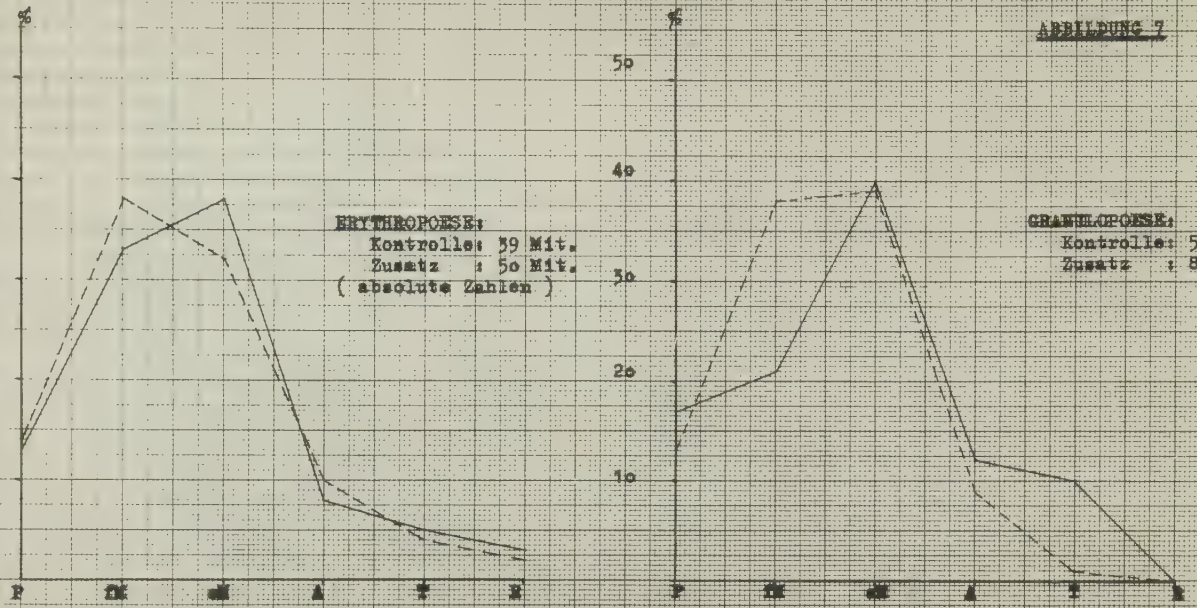


ABBILDUNG 7



Verteilung der Mitosephasen, Versuch 1 - 5 Kontrolle —— Zusatz mit AS -----

Abszisse: Mitosephasen Ordinate: Angaben der Mitosezahlen in %.

DISKUSSION

Ein Überblick über die Wirkung von ESF und AS auf die Erythropoese wurde in der Literaturübersicht am Anfang dieser Arbeit gegeben. Wie aus dem Schrifttum hervorgeht, ist bei Absinken des Hb-Wertes unter einen Wert von 10 g% die ESF-Aktivität im Plasma erhöht (36,52). Die betreffenden Autoren prüften über die Einbaurate von Isotopen in blutbildendes Gewebe die ESF-Aktivität von menschlichen Seren, die unter anderem auch von Patienten mit Blutungsanämien stammten. Aufgrund dieser Untersuchungen können wir im Falle unseres Serumspenders, bei dem nach anhaltenden Teerstühlen vor der Serumentnahme ein Hb-Wert von 8,3 g% vorlag, auf ein Serum mit gesteigerter ESF-Aktivität schließen.

Unser Versuchsaufbau mit menschlichen Koagulumkulturen ermöglicht uns, die Wirkung von AS auf die Proliferation der Erythro- und Granulopoese, die wir in Regeneration und Reifung unterteilen (5), zu beurteilen. Als Parameter dienen uns Reifungskurven, die G/E- und Mitoseindices sowie die karyologische Kurve, getrennt für Erythro- und Granulopoese.

Von den Autoren, die sich vergleichbarer Untersuchungen bedienen und eine ESF-Wirkung auf blutbildende Organe mit der Kulturmethode prüfen, sind vor allem MATOTH et al. (33,35) zu nennen. In ihrem Versuchsansatz verwendeten sie kultiviertes Knochenmark von Tieren, dem ESF-haltiges Serum zugesetzt wurde. Nach Hemmung des Mitoseablaufes im Stadium der Metaphase durch Colchicin konnten sie eine Steigerung der mitotischen Aktivität feststellen, erkennbar an einer Erhöhung der Mitosezahlen im ESF-haltigen Versuchsansatz gegenüber Kontrollkulturen.

Auch unsere Versuche zeigten eine Steigerung der mitotischen Aktivität der basophilen Erythroblasten, die sich über 3 Kulturtage darstellte. Die Erhöhung der Mitoserate spricht

für eine Regenerationssteigerung. Zusammen mit der Verminderung der basophilen Vorstufen in allen 5 Versuchen - also einer Reiferungssteigerung - liegt eine Proliferationsstimulierung der Erythropoese vor. Beachtung verdient in diesem Zusammenhang das Mitoseverhalten der oxyphilen Erythroblasten, die unter AS am ersten und zweiten Kulturtag erhöhte Mitosewerte zeigen (Tab.4,S.23).
Von BOLL (7) wurde in Knochenmarksuntersuchungen an Patienten mit Blutungsanämien ein bei Eisenmangel vermehrtes Teilnehmen der pE und oE an der Regeneration beschrieben. Ein ähnlicher Mechanismus wäre daher auch hier zu diskutieren: möglicherweise kommt es unter AS zu einer massiven Stimulation Hb-synthetisierender Zellen und infolge erschöpfter Eisendepots zu einem Auftreten Hb-armer und deswegen noch teilungsfähiger oxyphiler Erythroblasten.

ERSLEV (16-19) arbeitet im in vivo Tierversuch mit ESF-haltigem Organextrakt und berichtet über ein Ansteigen der Retikulozytenzahl, entsprechend unserer Verstärkung der Ausreifung erythropoetischer Zellen. Gleiche Ergebnisse mit ähnlichen Versuchsansätzen stammen von RAMBACH (41) und GORDON (24,25). Auch die Untersuchungen, die auf der Einbaurate von radioaktiv markiertem Eisen in blutbildende Organe basieren und so Aufschluß über die Hb-Synthese geben, sind im Sinne einer Reifungsförderung zu interpretieren (19,22,27).
Eine gesteigerte Ausreifung von Erythroblasten nach Zusatz von ESF-haltigem AS findet sich ebenfalls in unseren Koagulumkulturen: das unter Kulturbedingungen übliche Abnehmen der jugendlichen Erythroblasten ist unter AS verstärkt, was die z.T. statistisch signifikante Linksverschiebung der Differentialverteilung in den Reifungskurven zum Ausdruck bringt. Ebenfalls im Sinne einer beschleunigten Ausreifung lassen sich die Veränderungen einiger mittlerer G/E Indices (Tab.1,S.21), sowie die G/E Indices

einiger Einzelkulturen, besonders in Fall 1, deuten. In den anderen Versuchen muß angenommen werden, daß zwar Reifung und Regeneration gefördert werden, nicht aber die Entkernung, so daß die Regenerationsförderung der bE den Übergang der rE zu Retikulozyten übertrifft.
Die mit fortschreitender Kulturzeit verstärkte Verminderung der jüngeren Erythroblasten in den Zusatzkulturen läßt vermuten, daß die Stammzellen der Erythropoese unter den gegebenen Versuchsbedingungen nicht stimulierbar sind bzw. in dem Versuchsansatz nicht enthalten waren.

Während sich die meisten Autoren mit der Wirkung von ESF allein auf die Erythropoese beschäftigen, können wir mit unserem Versuchsansatz auch feststellen, welchen Einfluß ESF auf die Granulopoese hat: nach dem 1. Kulturtag beobachten wir in den Zusatzkulturen eine verstärkte Regeneration der granulopoetischen Vorstufen.
Dies geht einerseits aus der Erhöhung der Mitoseindices von Promyelozyten, weniger auch der Myelozyten hervor; zum anderen waren die Granuloblasten, verglichen mit den Werten in den Kontrollkulturen, relativ vermehrt. Eine positive Wirkung von ESF auf die Ausreifung der Granulopoese, wie sie POWSNER und BERMAN (40) fanden, zeichnet sich auch in unseren Untersuchungen ab: nach der Stimulierung der Granulopoese am ersten Kulturtag kommt es zu einer sehr guten Ausreifung (Abb.6,S.32), so daß durch das Anämieserum (AS) eine Proliferationsförderung nicht nur der Erythropoese, sondern auch der Granulopoese zutage tritt.

ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit wurde geprüft, welchen Effekt menschliches Serum, gewonnen von einem Patienten nach großem Blutverlust, auf menschliche Koagulumkulturen ausübt.

Es wurden vom Knochenmark von 5 Patienten Original-, Kontroll- und Koagulumkulturen mit 40 % Serum eines Patienten mit Blutungsanämie angelegt und zusammen etwa 70ooo Zellen differenziert.

Danach wurden Reifungs- und karyologische Kurven angelegt, der G/E Index und der rote und weiße Mitoseindex berechnet. Anschließend erfolgte eine Prüfung der Veränderungen zwischen Kontroll- und Zusatzkulturen auf ihre Signifikanz mit dem χ^2-Verfahren.

Dabei zeigte sich, daß mit zunehmender Kulturzeit das zugesetzte Serum die Ausreifung der Erythroblasten signifikant verstärkte und ihre Regeneration steigerte. Bei der Granulopoese erschien zuerst nur die Regeneration der Promyelozyten vermehrt, nach anfänglicher Vermehrung der teilungsfähigen Vorstufen war auch die Reifung sehr gut ausgeprägt.

Das Anämieserum (AS) regt also die Proliferation sowohl der Erythropoese als auch der Granulopoese an.

LITERATURVERZEICHNIS

1) ALPEN,E.L., CRANMORE,D., JOHNSTON,M.E.: Early Observation on the Effect of Blood Loss In: Erythropoiesis, p. 184, Ed.Jacobson L.O. and M. Doyle, Grune and Stratton, New-York-London 1962

2) BECKER,H.J., KNECHT,L.H., STRASCHIL,F.: Die makrozytäre Regeneration der Erythropoese Acta haemat. 43, 144, 1970

3) BOLL,I.: Morphologische Studien zum Verhalten von KM Zellen in vitro 1. Mitteilung: Granuloblastenmitosen, Fol. haematol. 3,58, 1958

4) BOLL,I.: Granulocytopoese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York, 1966

5) BOLL,I., MERSCH,G.: Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik der normalen und pathologischen Erythropoese in vitro Blut 17, 193, 1968

6) BOLL,I., MERSCH,G.: Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik der normalen und pathologischen Granulocytopoese in vitro Blut 19,257, 1969

7) BOLL,I.: Die Proliferationskinetik der normalen und angeregten Erythropoese nach morphologischen Kriterien In: Haematologie und Bluttransfusion Band 8, p 49, J.F. Lehmanns Verlag, München 1969

8) BORSOOK,H., GRAYBIEL,A., KEIGHLEY,G., WINDSOR,E.: Polycythemic Reponse in Normal Adult Rats to a Nonprotein Plasma Extract from Anemic Rabbits Blood 9, 734, 1954

9) BORSOOK,H., RATNER,K., TATTRIE,B., TEIGLER,D., LAJTHA,L.G.: Erythropoietin and the development of erythrocytes. Effect of Erythropoietin in Vitro, which stimulates that of a Massive Dose in Vivo Nature 217, 1024, 1968

10) BRECHER,G., STOHLMAN jr.F.: Reticulocyte Size and Erythropoietic Stimulation (26785) Proc.soc. 107, 887, 1961

11) BRECHER,G., STOHLMAN jr.F.: The Macrocytic Response to Erythropoietic Stimulation In: Erythropoiesis, p. 216, Ed. Jacobson L.O. and M.Doyle, Grune & Stratton, New York - London 1962

12) BRUCE, W.R., McCULLOCH,E.A.: The Effect of Erythropoietic Stimulation on the Hemopoietic Colony-forming Cells of Mice Blood 23, 216, 1964

13) COTES,P.M., BANGHAM,D.R.: Bioassay of erythropoietin in mice made polycythemic by exposure to air at reduced pressure Nature 191, 1065, 1961

14) DYKE,D.E. van, LARISSE,M., LAWRENCE,J.H., GARCIA,J.F., POLLYCOVE,H.: Relation between Severity of Anemia and Erythropoietin Titer in Human Beings Blood 18, 187, 1961

15) ENGELBRECHT,H.M., REMMELE,W.: Der Einfluß von Erythropoietin und somatotropem Hormon auf die Retikulozyten-Reifungszeit in vitro Blut 19, 385, 1969

16) ERSLEV,A.J.: Humoral Regulation of Red Cell Production Blood 8, 349, 1953

17) ERSLEV,A.J.: The Effect of Anemic Anoxia on the Cellular Development of Nucleated Red Cells Blood 14, 386, 1959

18) ERSLEV,A.J., BOISSEVAIN,A.R.: Direct measurement of the Early Erythropoietic Effect of Anemia Am.J.Phys. 210, 905, 1961

19) ERSLEV,A.J.: Erythropoietin in vitro
In: Erythropoiesis, p 275, Ed. Jacobson L.O., M. Doyle, Grune & Stratton, New York - London 1962

20) ESSERS,U., MANN,H.: Die Erythropoietinaktivität des Blutes bei Anämie mit hyperplastischem und hypoplastischem Knochenmark
Blut 22, 297, 1971

21) ESSERS,U., BRASS,H., SPICHER,K.: Die aplastische Anämie bei Niereninsuffizienz - eine inhibitorische Wirkung des Urämieserums auf Erythropoietin
Klin.Wschr. 48, 92, 1970

22) FISCHER,S.: Studies on the Mechanism and Site of Action of Erythropoietin
In: Erythropoiesis, p 204, Ed.Jacobson L.E., M.Doyle, Grune & Stratton New York - London 1962

23) GEIGY Wissenschaftl. Tabellen: Ausgabe 1955

24) GORDON,A.S.: Hemopoietine
Physiolog. Reviews 39, 1, 1959

25) GORDON,A.S., LoBUE,J., DORNFEST,B.S., COOPER,G.W.: Reticulocyte and Leukocyte Release from Isolated Rat Legs and Femurs
In: Erythropoiesis, p 321, Ed. Jacobson L.E.,M.Doyle, Grune & Stratton New York - London 1962

26) HANNA,I.R.A.: Response of Early Erythroid Precursors to Bleeding
Nature 214, 355, 1967

27) KORST,D.R., FRENKEL,E.P., WILHELM,J.E.: Studies using Short-term Bone Marrow Cultures
In: Erythropoiesis, p 310,Ed.Jacobson L.O.,M.Doyle, Grune & Stratton New York - London 1962

28) KRANTZ,S.B., GALLIEN-LARTIGUE,O., GOLDWASSER,E.: Effect of Erythropoietin upon Heme Synthesis by Marrow Cells in vitro
J. Biolog. Chem. 238, 4085, 1963

29) KUBANEK,B.: Erythropoietin: The Haematologist's Hormone
In: Hormone and Metabolic Research I, p 151, Thieme Verlag, Stuttgart 1969

30) LINMAN,J.W., BETHELL,F.H.: The Plasma Erythropoietic Stimulating Factor. Observations on Circulating Erythrocytes and Bone Marrow of Rats Receiving Protein-Free Extracts of Rabbit Plasma
Blood 11, 310, 1956

31) LORD,B.I.: Erythropoietic Cell Proliferation during Recovery from Acute Haemorrhage
Brit. J. Haemat. 13, 160, 1967

32) MATHEMATIKUNTERRICHT der Sonderdruck: Heft 3, Ernst Klett Verlag, Stuttgart 1960

33) MATOTH,Y., BEN PORATH,E.: Effect of Erythropoietin on the Mitotic Rate of Erythroblasts in Bone Marrow Cultures
J.Lab. Clin. Med. 54, 722, 1959

34) MATOTH,Y., KAUFMANN,L.: Mitotic Activity in Vitro of Erythroblasts Previously Exposed to Erythropoietin
Blood 20, 165, 1962

35) MATOTH,Y.: In Vitro Methods in the Study of Erythropoietin
In: Erythropoiesis, p 299, Ed.:Jacobson L.O.,M.Doyle, Grune & Stratton New York - London 1962

36) MOVASSAGHI,N., SHORE,N.A., HAMMOND,D.: Serum and Urinary Levels of Erythropoietin in Iron Deficiency Anaemia
Proc.Soc.Exper. Biol.Med. 126, 615, 1967

37) NECHELES,T.F.: Studies on the Controll of Hemoglobin Synthesis. The in Vitro Relationship between Erythropoietin and 5β-H Steroid induced Stimulation of Hemoglobin Synthesis in Human Bone Marrow Cells
In: The Regulation of Erythropoiesis and Hemoglobin Synthesis, Proceedings of the International Symposium Erythropoieticum Praha, 10-13 August, 1970 p. 292, Ed.: Travnicek,T., J.Neuwirt

38) PLUM,C.M.: In Vitro Study of Bone Marrow II, Studies of Erythropoiesis Blood 1, 42, 1947

39) POWSNER,E.R., BERMAN,L.: The Effect of Erythropoietin on Erythroblast Maturation in Bone Marrow Cultures In: Erythropoiesis, p 286, Ed. Jacobson L.O., M.Doyle, Grune & Stratton New York - London 1962

40) POWSNER,E.R., BERMAN, L.: Effect of Erythropoietin on DNA Synthesis by Erythroblasts in Vitro Blood 30, 189, 1967

41) RAMBACH,W.A., ALT,H.L., COOPER,J.A.D.: The Mode of Action and Nature of a Heat Stable Plasma Erythropoietic Factor Blood 12, 1101, 1957

42) REMMELE,W.: Die humorale Steuerung der Erythropoese Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1963

43) ROHR,K.: Das menschliche Knochenmark Thieme Verlag, Stuttgart 1960

44) ROSSE,W.F., GURNEY,C.W.: Studies on Erythropoiesis. The use of Bone Marrow Tissue Culture in Demonstrating Erythropoietin J.Lab. & Clin. Med. 53, 446, 1959

45) SATIMARU,S., MIYAHARA,M., ASAKURA,H., OCHI,O., MATSUOKA,K., TOYAMA,T.: Makrocytosis Resulting from Early Denucleation of Erythroid Precursors Blood 24, 582, 1964

46) Erythropoietin: Hormon der Hämatologen Selecta 23, 1986, 1971

47: STOHLMAN jr.F.: Humural Regulation of Erythropoiesis VII. Shortened Survival of Erythrocytes Produced by Erythropoietine or Severe Anemia (26784) Proc.Soc.Exp.Biol. and Med. 107, 884, 1961

48) STOHLMAN jr.F., BRECHER,G., MOORES,R.: Humoral Regulation of Erythropoiesis VIII. The Kinetics of Red Cell Production and the Effects of Erythropoietin
In: Erythropoiesis, p 162, Ed.Jacobson L.O., M.Doyle, Grune & Stratton, New York - London 1962

49) STOHLMAN jr.F., EBBE,S., MORSE,B., HOWARD,D., DONOVAN,J.: Regulation of Erythropoiesis XX Kinetics of Red Cell Production Ann.N.Y.Acad.Sci. 149/1, 156, 1968

50) STOHLMAN jr.F.: Regulation of Red Cell Production. Regulation of the Pluripotent Compartement
Proceedings of the Symposium Erythropoieticum Praha, 10-13 August, 1970, p 191

51) WINTROBE,M.M.: Clinical Hematology
Lea & Febiger, Philadelphia 1961, p 65

52) WOLTERS,H.G.: Spezifische humorale Regulation der Erythropoese
Habilitationsschrift, Berlin 1970

Frau Professor Dr. med. Irene Boll möchte ich für die Themenstellung und die freundliche Unterstützung beim Fortgang der Arbeit danken.

Für die Hilfe bei der statistischen Auswertung der Arbeit danke ich Herrn Professor Dr. H.J. Belitz.

Ebenfalls sei an dieser Stelle den Mitarbeitern von Frau Professor Dr. med. Irene Boll gedankt.

Diese Arbeit wurde mit Unterstützung der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT durchgeführt.

LEBENSLAUF

Am 28.12.1947 wurde ich, Hans-Ulrich Stockhorst, als Sohn des Dr.med.Gerhard Stockhorst und seiner Ehefrau Lieselotte, geb. Fischer, in Berlin geboren.
Im Rahmen meiner Schulzeit besuchte ich die Rehberge-Schule in Berlin-Wedding, das Französische Gymnasium in Berlin-Reinickendorf, die 9. Grundschule in Berlin-Wedding und die Lessing-Schule in Berlin-Wedding. Dort legte ich im Februar 1967 meine Reifeprüfung ab.
Das Studium der Humanmedizin begann ich im Sommersemester 1967 an der Freien Universität Berlin, an der ich im Frühjahr 1968 das Vorphysikum und im Herbst 1969 das Physikum bestand.
Nach einem Semester Studium an der Rheinischen-Friedrich-Wilhelms-Universität in Bonn (SS 1970) kehrte ich zur Freien Universität Berlin zurück. Hier bestand ich am 1. Februar 1973 das Staatsexamen.
Nach Beginn meiner Medizinalassistentenzeit am Städt. Krankenhaus Berlin-Britz, Dermatologische Abteilung und Fortsetzung an der I. Med. Klinik des Klinikums rechts der Isar in München, bin ich zur Zeit Medizinalassistent an der dortigen Chirurgischen Abteilung.
Seit Oktober 1970 bin ich Doktorand.